



**Protección por metabolitos secundarios en el desarrollo de *Apis mellifera*
contra el piretroide deltametrina**

Valeria Velandia Romero

**Universidad del Rosario
Facultad de Ciencias Naturales
Bogotá D.C, Colombia
2021**

**Protección por metabolitos secundarios en el desarrollo de *Apis mellifera*
contra el piretroide deltametrina**

Valeria Velandia Romero

Trabajo de grado-Tesis presentado como requisito para obtener el título de:

(Biólogo)

Director

PhD, Andre J. Riveros

**Facultad de Ciencias Naturales
Biología
Universidad del Rosario
Bogotá D.C, Colombia
2021**

Protección por metabolitos secundarios en el desarrollo de *Apis mellifera* contra el piretroide deltametrina

V. Velandia¹ y A.J. Riveros¹

¹Programa de Biología, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad del Rosario. Bogotá. Colombia

Resumen

Las abejas melíferas son polinizadores de gran importancia. No obstante, el uso de pesticidas como el piretroide deltametrina está relacionado con la disminución acelerada de poblaciones de abejas en todo el mundo. Los metabolitos secundarios de plantas pueden regular positivamente las defensas antioxidantes, sin embargo, aún no se conoce si sus efectos positivos se extienden al desarrollo de las abejas. En el presente estudio se evaluó el potencial protector de los metabolitos secundarios en el desarrollo de *Apis mellifera* contra la deltametrina. Dos colmenas de abejas fueron alimentadas con una torta proteica, una suplementada con metabolitos secundarios y una sin suplementar. Posteriormente, las crías de cada colmena fueron expuestas a concentraciones variables de deltametrina por 24h. Las abejas provenientes de la colmena suplementada presentaron diferencias significativas en las variables de supervivencia, consumo de sacarosa y peso frente a las abejas de la colmena no suplementada. Las diferencias observadas pueden radicar en el aumento de la actividad detoxificante y antioxidante de las abejas. En conjunto, nuestros resultados sugieren que una dieta rica en metabolitos secundarios puede ser una solución ante la desaparición de las abejas.

Abstract

Honey bees are important pollinators. Nevertheless, the use of pesticide such as pyrethroid deltamethrin is correlated to the rapid decline of the global bee population. The plant secondary metabolites can upregulate the antioxidant system, however, it is unknown if the positive effects of the secondary metabolites can extent to the development of the bees. In this study we evaluated the protector potential of the secondary metabolites in the development of *Apis mellifera* against deltamethrin. Two hives were fed with a protein patty, one with a solution of secondary metabolites and the other without the supplement. Then, the brood from each hive

were exposed to varying concentrations of deltamethrin for 24h. We found significant differences in survival percentage, sucrose intake and weight in the bees from the fortified hive versus the unfortified hive. The observed differences between hives stimulates the detoxification and antioxidant activity in bees. Our results suggest that a diet rich in secondary metabolites could be a possible solution due to the loss of bees.

Palabras clave: *Apis mellifera*, piretroide, deltametrina, metabolitos secundarios

Keywords *Apis mellifera*, pyrethroid, deltamethrin, secondary metabolites

INTRODUCCIÓN

Las abejas melíferas (*Apis mellifera* sp.) son fundamentales por sus servicios en ecosistemas naturales y agroecosistemas (Negri *et al.*, 2019). Las abejas participan en la reproducción de aproximadamente 30.000 especies de plantas de las cuales un tercio corresponde a alimentos para la población humana (Wratten *et al.*, 2012). En Colombia, las abejas participan en la producción y mantenimiento de los principales cultivos, como el café, la mandarina, la mango, la curuba, el frijol, la arveja y el tomate, entre muchos otros (DANE, 2018). A pesar de esta importancia, durante las últimas décadas se ha reportado una disminución acelerada de abejas en todo el mundo (Negri *et al.*, 2019).

La reducción de poblaciones de abejas es influenciada por múltiples factores (Tomé *et al.*, 2020). Los factores perjudiciales son la pérdida de hábitat, la deficiencia de recursos de polen y néctar, los patógenos, los parásitos y la exposición a contaminantes como los pesticidas presentes en el polen, néctar, propóleo o agua (Gregorc & Ellis, 2011; Negri *et al.*, 2019; Tomé *et al.*, 2020). La exposición a pesticidas es uno de los factores más perjudiciales para las abejas (Goulson *et al.*, 2015; Gong & Diao, 2017). El uso de insecticidas se justifica como una técnica para asegurar la seguridad alimentaria mundial (Verger & Boobis, 2013). Para reducir la pérdida de cultivos se ha implementado el uso de pesticidas ante ataques de plagas y patógenos (Gregorc & Ellis, 2011; Verger & Boobis, 2013). Entre los principales pesticidas con efecto negativo están los neonicotinoides, piretroides y organofosforados (Decourtye *et al.*, 2004; Christen *et al.*, 2019)

Los piretroides son uno de los insecticidas más populares y más usados para el control de plagas en agricultura, áreas residenciales, salud pública y como antiparasitario tópico en mamíferos debido a su baja toxicidad (Schleier & Peterson, 2012; Piccolomini *et al.*, 2018; Christen *et al.*, 2019). La deltametrina es un piretroide que se une a los canales de sodio dependientes de voltaje de neuronas, prolonga su apertura y causa una disrupción en la comunicación neuronal (Soderlund, 2010; Christen *et al.*, 2019). Adicionalmente, la deltametrina, durante el metabolismo en el organismo, produce altas concentraciones de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (Lu *et al.*, 2019). Las especies reactivas pueden producir efectos negativos incluyendo la ruptura de la membrana lipídica celular, modificación o daño de proteínas y ácidos nucleicos afectando su actividad fisiológica y por ende su supervivencia (Gong & Diao, 2017; Lu *et al.*, 2019).

Los alimentos consumidos por abejas melíferas son una fuente de compuestos que generan especies reactivas durante su metabolismo, como aleloquímicos, fenoles y fitoquímicos etc (Orčić *et al.*, 2017). Sin embargo, las concentraciones celulares de especies reactivas son controladas por el sistema antioxidante capaz de lidiar con altos niveles de estrés oxidativo a través de mecanismos enzimáticos y no enzimáticos (Orčić *et al.*, 2017); el sistema antioxidante también está involucrado en la neutralización de xenobióticos, metales pesados y pesticidas (Orčić *et al.*, 2017). Las enzimas que participan en el proceso de metabolismo de compuestos en los alimentos incluyen las citocromo monooxigenasas P450 (P450s) (Johnson *et al.*, 2009; Gong & Diao, 2017; Orčić *et al.*, 2017). Paradójicamente, el polen y el néctar, además de ser fuente de los piretroides, son fuentes de moléculas protectoras como los metabolitos secundarios (Christen *et al.*, 2019).

Los metabolitos secundarios de plantas son compuestos con actividad antioxidante que previene la generación de especies reactivas de oxígeno (Kocot *et al.*, 2018). Además, los metabolitos secundarios poseen un efecto positivo en la regulación de las defensas detoxificantes enzimáticas presentes en abejas adultas (Negri *et al.*, 2019). Existe una estrecha relación entre una nutrición de calidad y una alta inmunidad en abejas (Negri *et al.*, 2019). Un alimento rico en metabolitos secundarios aumenta la resiliencia contra factores de estrés (Mao *et al.*, 2017). Sin embargo, los estudios de los efectos positivos de los metabolitos secundarios en la dieta durante el desarrollo de adultos de *Apis mellifera* son escasos. De manera interesante, en adultos de *Apis mellifera* y *Bombus impatiens* los efectos subletales cognitivos causados por

imidacloprid, fipronil y deltametrina pueden ser evitados a través de la modulación de la dieta (García *et al.*, sin publicar; Caicedo *et al.*, sin publicar; Ramírez *et al.*, sin publicar; Riveros *et al.*, sin publicar)

Durante los procesos de forrajeo se colectan polen y néctar contaminados con piretroides como la deltametrina, que pueden ser almacenados en la colmena o ser usados para alimentar a las crías (Yang *et al.*, 2020). Así, las larvas pueden estar en continua exposición acumulativa de pesticidas durante todo su desarrollo, lo que puede conducir a su muerte o a efectos subletales en la fase adulta (Yang *et al.*, 2020). Teniendo en cuenta lo anterior, es importante desarrollar métodos de protección de las larvas ya que el éxito en la fase larval es crítico para el mantenimiento y la prosperidad de la colmena (Tavares *et al.*, 2015; Negri *et al.*, 2019). En el presente estudio hipotetizamos que los efectos positivos de la ingesta de diversos tipos de metabolitos secundarios, vistos en adultos, pueden extenderse a larvas, protegiéndolas y generando adultos con menor sensibilidad ante pesticidas. Específicamente, el objetivo de este estudio es evaluar el potencial protector de metabolitos secundarios en el desarrollo de la abeja de la miel *Apis mellifera* ante exposición a deltametrina.

MÉTODOS

Sujetos experimentales

Los experimentos fueron conducidos entre los meses de abril a junio de 2021 con colmenas de híbridos resultantes de cruces de *A. mellifera ligustica* x *A. mellifera scutellata* del apiario de la Sede Quinta de Mutis de la Universidad del Rosario (4°39'16.68'' Norte, 74°4'22'' Oeste, altitud de 2.640 msnm).

Alimentación de colmenas y preparación de individuos

Se formaron dos grupos experimentales cada uno integrado por una colonia de abejas (aproximadamente 10.000 individuos). Se definieron dos tratamientos: i) suplementado con torta proteica enriquecida con una solución con metabolitos secundarios (Suplementada) y ii) suplementado con torta proteica sin enriquecimiento (No Suplementada). La torta fue elaborada con 50% de polen en polvo, 50% de miel cristalizada, dos gotas de colorante artificial (según técnicas de meliponicultura) y entre 25 a 30g de azúcar comercial para dar consistencia pastosa

a la dieta. El grupo suplementado fue alimentado con una torta proteica de 250g. Adicionalmente, se agregó a la preparación 2,5mL de la composición de metabolitos secundarios (la composición específica es confidencial y por esta razón no se revela en este documento). Cada colonia recibió semanalmente una torta proteica de 250g con una superficie de 84,640 mm² para maximizar su consumo (Avni *et al.*, 2009).

La experimentación comenzó con la introducción de un cuadro de cría ya construido (marcados) junto con la torta proteica a cada una de las colmenas, con el fin de conseguir crías de edades similares para la siguiente fase del experimento. La dieta fue reemplazada cada ocho días por un mes para dar suficiente tiempo para que las crías fuesen alimentadas con la dieta. El sobrante del alimento fue pesado con el fin de verificar la cantidad de alimento consumido por cada colmena.

Ensayo de supervivencia

Después de 19 días de la introducción de las tortas, se extrajeron los cuadros de cría marcados correspondientes a la colmena Suplementada y No Suplementada con mayor número de pupas posible (cría operculada) 12h antes de su eclosión. El cuadro fue almacenado en una incubadora a una temperatura de $34 \pm 1^\circ\text{C}$ y RH de $45 \pm 5\%$. Los adultos recién emergidos fueron llevados a una cámara (Figura 1) (cada uno incluyendo 10 individuos) y asignados de forma aleatoria a exposición oral *ad libitum* (en el alimento) a uno de tres tratamientos con deltametrina (Dinastía EC100; Bayer): i) 0,01 mM (Delta-0,01), 0,1 mM (Delta-0,1) y 1 mM (Delta-1) o ii) auto administración *ad libitum* de una solución de sacarosa (1M) para el grupo Control durante las primeras 24 h (Wu *et al.*, 2017). Así, cada individuo perteneció a uno de ocho tratamientos (Figura 2).

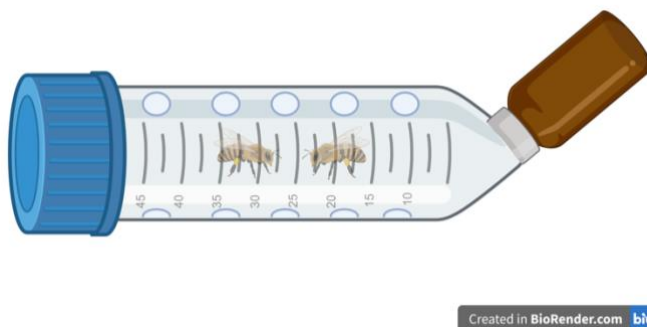


Figura 1. Ilustración de montaje de crianza. Creado con BioRender.com

El piretroide deltametrina fue disuelto en agua destilada y diluido en una solución de sacarosa 1M hasta la concentración deseada. Cabe mencionar que las dosis implementadas fueron considerablemente elevadas teniendo en cuenta valores de concentraciones letales y subletales de deltametrina presentes en la literatura (Badiou *et al.*, 2008; Thany *et al.*, 2015; Aljedani, 2017; Piccolomini *et al.*, 2018; Christen *et al.*, 2019; Yang *et al.*, 2020)

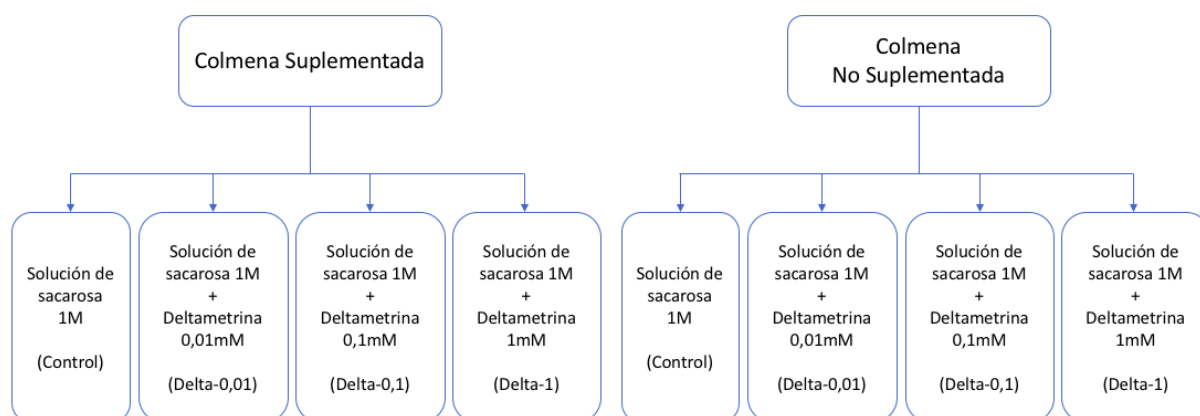


Figura 2. Diseño experimental de los tratamientos implementados en el presente estudio.

La supervivencia fue registrada los días 1, 2, 4 y 8 después de la exposición al pesticida (Wu *et al.*, 2017). Una abeja fue considerada muerta si estaba completamente inmóvil y no respondía a un estímulo mecánico (Piccolomini *et al.*, 2018). Finalizado el tiempo de exposición, los alimentadores fueron cambiados por soluciones de agua con azúcar 1M por los siguientes seis días.

Estimación de consumo y dosis de deltametrina

Las dosis de deltametrina consumida para cada uno de los tratamientos fueron estimadas promediando los valores de volumen consumido *ad libitum* de las soluciones por abeja medidas al cumplirse 24h después de la exposición, de la misma forma, se obtuvieron los valores de solución de sacarosa consumida 2, 4 y 8 días después de la exposición a deltametrina. Este procedimiento también permitió estimar la concentración letal 50 (CL₅₀), es decir, la concentración que redujera la cantidad de individuos en un 50% en las 48h después de la exposición.

Cuantificación de tamaño corporal

Adicionalmente, se seleccionaron adultos recién emergidos de ambos tratamientos para cuantificar el tamaño: variaciones en peso seco (cabeza y tórax) y ancho de cabeza a la altura de inserción de las antenas (usando el software ImageJ versión 1.53; NIH)

Análisis estadísticos

Los valores de CL_{50} y sus intervalos de confianza fueron estimados usando el software SPSS Statistics versión 27.09; IBM. La evaluación de supervivencia entre las colmenas Suplementada y No suplementada fue ejecutada usando el test de Kaplan-Meier (Aljedani, 2017; Tosi *et al.*, 2017) y comparada usando el test de Log-rank. Se excluyeron del estudio los grupos Control que presentaran una mortalidad superior al 20% durante las primeras 24h de exposición.

Se realizó la prueba de Pearson para evaluar la normalidad de los datos obtenidos. Se realizó una prueba de Kruskal-Wallis para comparar los valores de consumo de los tratamientos Delta (0,01, 0,1 y 1) y Control. Posterior a la prueba ANOVA, se realizó la prueba de Tukey con el fin de identificar diferencias en el consumo de sacarosa entre las colmenas en los tiempos 2,4 y 8 días después de la exposición inicial. Para comparar el tamaño entre individuos de las dos colmenas respecto a peso seco y ancho de cabeza, se realizó la prueba de t de Student. $P < 0,05$ fue teniendo en cuenta para considerar la significancia estadística. Todos los análisis estadísticos fueron ejecutados usando el software RStudio versión 3.6.0; Rstudio Team.

RESULTADOS

Alimentación de colmenas

Ambas colmenas consumieron la totalidad de las tortas fortificadas (Suplementada) y no fortificadas (No Suplementada) suministradas durante las 8 semanas de alimentación.

Ensayo de supervivencia

Las abejas alimentadas con la solución de sacarosa (Control) presentaron diferencias en los porcentajes de supervivencia según la colmena de donde provenían (Figura 3; Test de Log-rank, $P < 0,0001$). Los individuos de la colmena Suplementada tuvieron un porcentaje del 100% para el día 1 hasta descender un 52% para el día 8, mientras que las abejas de la colmena No Suplementada exhibieron porcentajes de 72% y 22% para estos dos tiempos.

En los individuos pertenecientes a la colmena No Suplementada, se evidenció que el porcentaje de mortalidad de las abejas es dependiente de la concentración de deltametrina. Después de 24h de exposición, los porcentajes de supervivencia para los tratamientos Delta-0,01, Delta-0,1 y Delta-1 fueron de 56,7%, 16% y 0% correspondientemente. Las abejas expuestas a la concentración 0,1mM murieron en su totalidad en el día 4 mientras que aquellas pertenecientes al grupo Delta-0,01 descendieron en un 13,3% en el día 8. Adicionalmente, en ambas colmenas las abejas Control tuvieron un mayor porcentaje de supervivencia en todos los tiempos de muestreo a diferencia de aquellas expuestas a los tratamientos con deltametrina (Figura 3; Test de Log-rank, $P < 0,0001$).

La ingesta de la torta proteica fortificada durante el desarrollo generó adultos más resistentes a la deltametrina. El valor de CL_{50} estimado para la colmena Suplementada fue 0,27mM (95% IC=0,15-0,43) y 0,01mM (95% IC=0-0,03) para la colmena No Suplementada. Los individuos provenientes de la colmena Suplementada, en todos los tratamientos con deltametrina y en todos los tiempos de evaluación, presentaron un incremento significativo del porcentaje de supervivencia a diferencia de la colmena No Suplementada (Figura 3; Test de Log-rank, $P < 0,0001$). En el día 8, los porcentajes de supervivencia para las abejas de la colmena Suplementada fueron 43,3% para el tratamiento Delta-0,01, 16,7% para Delta-0,1 y 1,7% para Delta-1. El único tratamiento sobreviviente de la colmena No Suplementada fue Delta-0,01 con un valor de 13,3% para el día 8. Cabe mencionar que las curvas de supervivencia presentan eventos de censura estadística, los cuales corresponden a individuos que sobrevivieron después del último tiempo de evaluación (Figura 3).

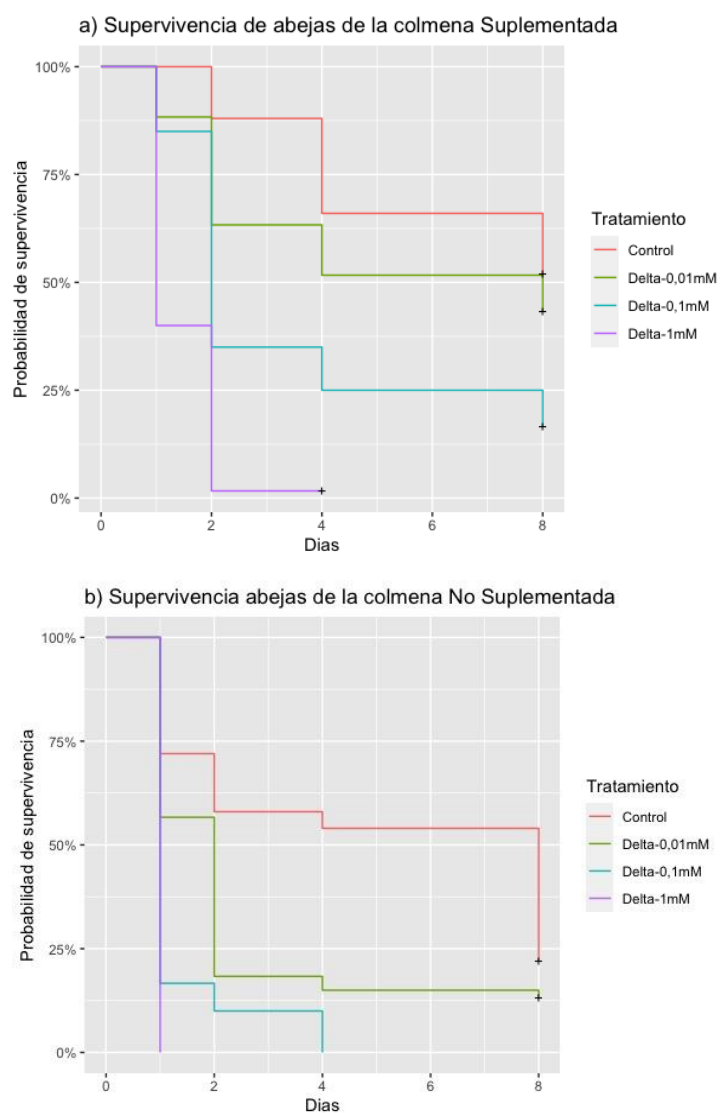


Figura 3. Modelo de supervivencia de Kaplan-Meier para las colmenas: a) Suplementada b) No Suplementada para cada uno de los tiempos de evaluación. “+” corresponde a individuos censurados estadísticamente

Estimación de consumo y dosis de deltametrina

El consumo de todos los tratamientos se realizó de manera similar (Tabla 1) para ambas colmenas (Kruskal-Wallis $H_1 = 1,43$, $p = 0,23$). Las abejas de ambas colmenas no tuvieron preferencia de consumo por alguno de los tratamientos de deltametrina según la prueba

ANOVA (Delta-0,01 $F_{1,10} = 6,34$, $p > 0,05$; Delta-0,1 $F_{1,11} = 0,067$, $p > 0,05$; Delta-1 $F_{1,11} = 2,52$, $p > 0,05$).

Tabla1. Valores de número de individuos por tratamiento, volumen consumido por cada una de las abejas durante 24h de exposición y resultado de dosis de deltametrina consumida

Colmena	Tratamiento	Número de individuos	Volumen consumido ($\mu\text{l}/\text{abeja}/24\text{h}$)	Deltametrina consumida ($\mu\text{g}/\text{abeja}/24\text{h}$)
Suplementada	Control	50	42	NA
	Delta-0,01	60	10,83	0,055
	Delta-0,1	60	18	0,91
	Delta-1	60	23	11,61
No Suplementada	Control	50	56	NA
	Delta-0,01	60	23	0,116
	Delta-0,1	60	19	0,96
	Delta-1	60	9,68	4,89

En general, las abejas provenientes de la colmena No suplementada presentaron un mayor consumo de sacarosa que las de la colmena Suplementada (ANOVA; $F_{3,20} = 8,151$, $p < 0,001$), el cual es dependiente a las concentraciones de deltametrina (Figura 4), esto visto en los tratamientos Control en el día 8, Delta-0,01 para todos los momentos y Delta-0,1 para los días 4 y 8 según la prueba post hoc Tukey HSD ($p < 0,05$). Las abejas de la colmena Suplementada y expuestas a la concentración de deltametrina 0,1mM consumieron un mayor volumen en los días 4 y 8, a diferencia de los demás tratamientos según la prueba post hoc Tukey HSD ($p < 0,05$).

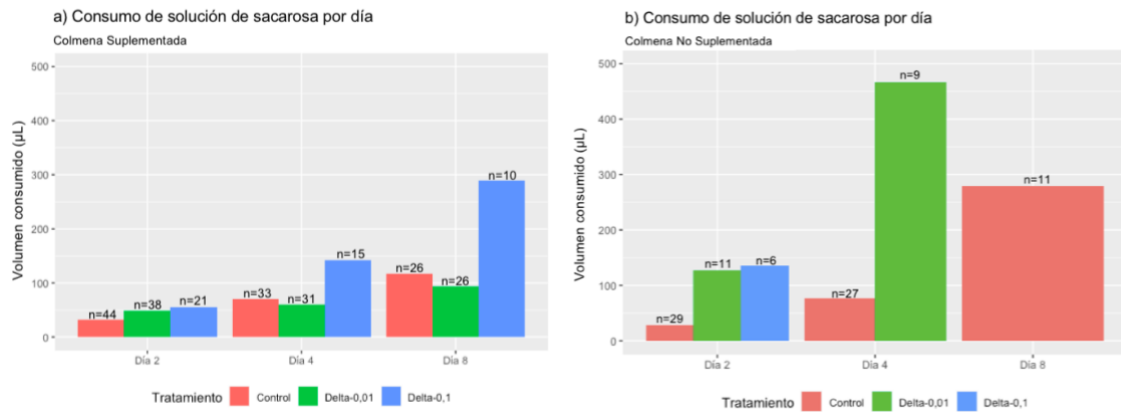


Figura 4. Consumo de solución de sacarosa 2, 4 y 8 días después de la exposición de deltametrina. Los valores presentes sobre cada una de las barras corresponden al número de abejas restantes en los tiempos de evaluación, el cual se tuvo en cuenta para el cálculo de consumo.

Cuantificación de tamaño corporal

Las abejas provenientes de la colmena Suplementada ($M = 34,7$ mg, $DE = 3,96$) fueron más pesadas que las abejas de la colmena No Suplementada ($M = 22,3$ mg, $DE = 6,37$), según la prueba de t de Student ($t(62) = -10,176$, $p < 0,0001$). En las mediciones de anchura de la cabeza por individuo no se detectó diferencias las colmenas No Suplementada ($M = 3,59$ mg, $DE = 0,09$) y Suplementada ($M = 3,61$ mg, $DE = 0,084$) según la prueba t de Student ($t(72) = 1,43$, $p > 0,05$).

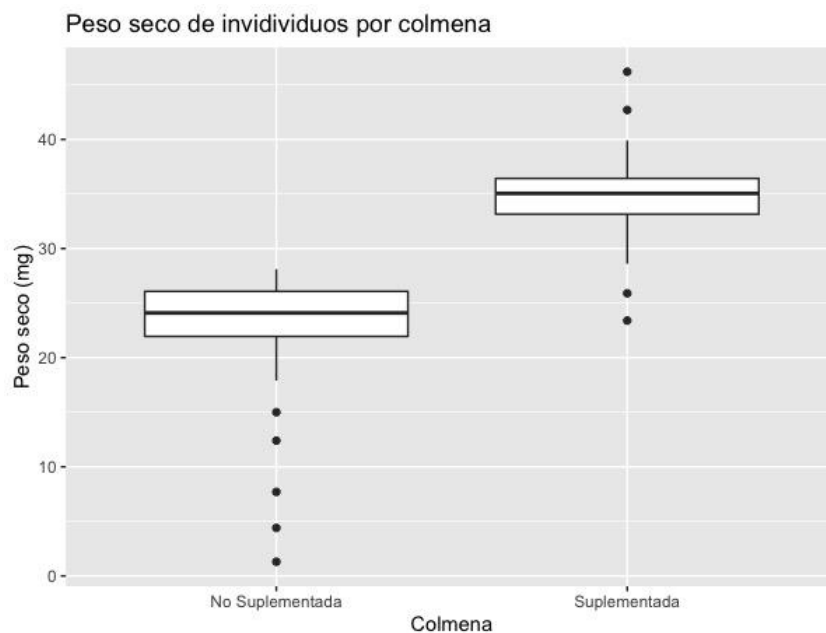


Figura 5. Distribución de valores de peso seco de individuos provenientes de las colmenas Suplementada con un promedio de $34,7 \pm 6$ y No Suplementada con un promedio de $22,3 \pm 1$.

DISCUSIÓN

La desaparición de las abejas a causa de los pesticidas es un fenómeno preocupante debido a los múltiples servicios que ofrecen no solamente a los humanos sino también al mantenimiento de los ecosistemas. El rápido declive de las abejas melíferas demanda soluciones contra los efectos letales y subletales de los pesticidas. En este estudio evaluamos el potencial protector de una solución rica en metabolitos secundarios vegetales, adicionada una torta proteica, durante el desarrollo de un híbrido de la abeja africanizada *Apis mellifera* ante concentraciones variables de deltametrina. Nuestros resultados muestran que las abejas alimentadas con la torta suplementada mostraban resistencia ante la exposición al insecticida. Aquí proponemos que nuestras observaciones pueden explicarse por la ingesta de una dieta de calidad en las primeras fases del desarrollo (intrínseca al diseño experimental) y la influencia de los metabolitos secundarios en las defensas antioxidantes (producto de la suplementación).

En primer lugar, nuestras abejas, independientemente del protocolo de alimentación, fueron más resistentes a dosis altas de deltametrina. Las dosis letales 50 (DL₅₀) de deltametrina reportadas poseen un amplio rango que va desde 1,6 ng hasta 78 ng por abeja para adultos jóvenes y abejas forrajeras (Piccolomini *et al.*, 2018). La resistencia de las abejas, expuestas a dosis muy superiores a las reportadas, puede deberse al suministro continuo de una nutrición de calidad en las tortas proteicas, las cuales fueron preparadas con miel y polen multifloral. El néctar y el polen obtenido de múltiples especies de plantas incrementa la diversidad de metabolitos secundarios y resulta en un alimento de alta calidad (Negri *et al.*, 2019). El consumo rápido y total de las tortas, la presencia de reservas de polen y miel operculada en ambas colmenas sugiere que estos suplementos contaron como fuente principal y estimularon la fabricación de alimento aportado por las abejas nodrizas a las crías (Pankiw *et al.*, 2008). No obstante, la ingesta del alimento suplementado generó diferencias ante la exposición de la deltametrina, atribuido esto a la presencia de la solución de metabolitos secundarios.

Nosotros hipotetizamos que el mecanismo de protección de la solución rica en metabolitos secundarios yace en el aumento de las defensas antioxidantes enzimáticas. En ensayos *in vivo*, los fitoquímicos funcionan como antioxidantes en mamíferos e insectos (Pyrzynska & Biesaga,

2009; Venkata *et al.*, 2017; Nkpaa & Onyeso, 2018; Wong *et al.*, 2018; Chattopadhyay & Thirumurugan, 2020). En adultos *Apis mellifera* la ingesta constante de metabolitos secundarios como cafeína, ácido p-cumárico, caseína, ácido abscísico, quercetina, entre otros, aumenta la tolerancia a pesticidas, entre ellos piretroides (Liao *et al.*, 2017). Los mecanismos de resistencia yacen en la regulación positiva de la expresión de enzimas detoxificantes cuya función es el metabolismo de xenobióticos. Las enzimas reguladas positivamente son citocromo P450 y la familia CYP9Q; aumentando así la detoxificación de pesticidas en el sistema reduciendo sus efectos negativos y favoreciendo la longevidad de las abejas (Liao *et al.*, 2017; Wong *et al.*, 2018).

La enzima citocromo P450 es una de las principales detoxificadoras en el organismo que actúan ante la presencia de xenobióticos (Gong & Diao, 2017; Wong *et al.*, 2018). Los metabolitos producidos por los fitoquímicos pueden interactuar con las enzimas CYP, induciendo o inhibiendo su actividad (Koval'skii *et al.*, 2014). Por ejemplo, la ingesta simultánea de metabolitos secundarios y pesticidas neonicotinoides en abejas adultas recién emergidas reduce la concentración del insecticida en todo el cuerpo (Ardalani *et al.*, 2021). Abejas expuestas a 10ng de imidacloprid redujeron 0,8ng por abeja después de 72h (Ardalani *et al.*, 2021). La ingesta de soluciones compuestas por metabolitos secundarios en *Drosophila melanogaster* durante su estadio larval genera un aumento de la probabilidad de pupar y el porcentaje de eclosión (Chattopadhyay *et al.*, 2017). En adultos, la ingesta de metabolitos secundarios aumenta la supervivencia y la resistencia ante diferentes factores de estrés como la exposición a altas temperaturas, la escasez de alimento y el estrés oxidativo (consumo de solución de 5% de peróxido de hidrógeno; Chattopadhyay *et al.*, 2017). Adicionalmente, la característica antioxidante de los metabolitos secundarios yace en la presencia de estructuras que permiten unirse a los radicales libres a iones metálicos los cuales previenen la formación de especies reactivas de oxígeno (Koval'skii *et al.*, 2014). Los fitoquímicos pueden reducir los efectos tóxicos de piretroides regulando las concentraciones de especies reactivas producidas (Liao *et al.*, 2017).

Cabe resaltar que las abejas de las colmenas utilizadas enfrentaron otros factores de estrés derivados de la ubicación en zonas urbanas. La contaminación, los cambios abruptos en la temperatura y la poca diversidad de plantas pueden afectar negativamente a las poblaciones de abejas (Al Naggar *et al.*, 2013; Sánchez-Echeverría *et al.*, 2019). Sin embargo, el efecto protector de los metabolitos secundarios puede maximizarse al añadir una solución de

metabolitos secundarios a las tortas proteicas. El consumo de metabolitos secundarios puede estar estrechamente ligado a vías de señalización relacionadas con un aumento del peso seco en cría de abejas y en la longevidad, siendo estos indicadores de la buena salud de las abejas y colmenas (Negri *et al.*, 2019)

En conclusión, nuestros resultados indican que una alimentación rica en metabolitos secundarios durante el desarrollo de *Apis mellifera* genera adultos más resistentes ante concentraciones altas de deltametrina. Este hallazgo es de gran importancia ya que aporta información para detener el rápido declive de abejas a nivel mundial. Además, se requieren futuros estudios para determinar con precisión la interacción de los metabolitos secundarios y los pesticidas en las abejas melíferas.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto fue financiado por el fondo para la Financiación de Trabajos de Grado - Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad del Rosario y el fondo Big Grant de la Dirección de Investigación e Innovación de la Universidad del Rosario. Los autores expresan sus agradecimientos a Juan Pablo Cabezas y a Gino Cala de Apis Green® por su acompañamiento en la realización de este proyecto. Y hacen una mención especial al grupo de investigación CANNON y a sus integrantes: Valentina Caicedo, David Cardona, Lina María García, Diana Molina y, Daniela Ramírez.

REFERENCIAS

- Ardalani H, Vidkjær NH, Laursen BB, Kryger P, Fomsgaard IS. 2021.** Dietary quercetin impacts the concentration of pesticides in honey bees. *Chemosphere* **262**: 127848.
- Chattopadhyay D, Chitnis A, Talekar A, Mulay P, Makkar M, James J, Thirumurugan K. 2017.** Hormetic efficacy of rutin to promote longevity in *Drosophila melanogaster*. *Biogerontology* **18**: 397–411.
- Chattopadhyay D, Thirumurugan K. 2020.** Longevity-promoting efficacies of rutin in high fat diet fed *Drosophila melanogaster*. *Biogerontology* **21**: 653–668.
- Christen V, Joho Y, Vogel M, Fent K. 2019.** Transcriptional and physiological effects of the pyrethroid deltamethrin and the organophosphate dimethoate in the brain of honey bees (*Apis*

mellifera). *Environmental Pollution* **244**: 247–256.

Decourtye A, Devillers J, Cluzeau S, Charreton M, Pham-Delègue MH. 2004. Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **57**: 410–419.

Gong Y, Diao Q. 2017. Current knowledge of detoxification mechanisms of xenobiotic in honey bees. *Ecotoxicology* **26**: 1–12.

Goulson D, Nicholls E, Botías C, Rotheray EL. 2015. Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science* **347**: 1255957.

Gregorc A, Ellis JD. 2011. Cell death localization in situ in laboratory reared honey bee (*Apis mellifera* L.) larvae treated with pesticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **99**: 200–207.

Johnson RM, Wen Z, Schuler MA, Berenbaum MR. 2009. Mediation of Pyrethroid Insecticide Toxicity to Honey Bees (Hymenoptera: Apidae) by Cytochrome P450 Monooxygenases. *Journal of Economic Entomology* **99**: 1046–1050.

Kocot J, Kielczykowska M, Luchowska-Kocot D, Kurzepa J, Musik I. 2018. Antioxidant potential of propolis, bee pollen, and royal jelly: Possible medical application. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* **2018**.

Koval'skii I V., Krasnyuk II, Krasnyuk II, Nikulina OI, Belyatskaya A V., Kharitonov YY, Feldman NB, Lutsenko S V. 2014. Molecular-biological problems of drug design and mechanism of drug action: Mechanisms of rutin pharmacological action (review). *Pharmaceutical Chemistry Journal* **48**: 73–76.

Liao L-H, Wu W-Y, Berenbaum MR. 2017. Impacts of Dietary Phytochemicals in the Presence and Absence of Pesticides on Longevity of Honey Bees (*Apis mellifera*). *Insects* **8**.

Lu Q, Sun Y, Ares I, Anadón A, Martínez M, Martínez-Larrañaga MR, Yuan Z, Wang X, Martínez MA. 2019. Deltamethrin toxicity: A review of oxidative stress and metabolism. *Environmental Research* **170**: 260–281.

Mao W, Schuler MA, Berenbaum MR. 2017. Disruption of quercetin metabolism by fungicide affects energy production in honey bees (*Apis mellifera*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **114**: 2538–2543.

Al Naggar YA, Naiem EA, Seif AI, Mona MH. 2013. Honey bees and their products as bio-indicator of environmental pollution with heavy metals. *Mellifera* **20**: 10–20.

Negri P, Villalobos E, Szawarski N, Damiani N, Gende L, Garrido M, Maggi M, Quintana S, Lamattina L, Eguaras M. 2019. Towards precision nutrition: A novel concept linking phytochemicals, immune response and honey bee health. *Insects* **10**.

- Nkpaa KW, Onyeso GI. 2018.** Rutin attenuates neurobehavioral deficits, oxidative stress, neuro-inflammation and apoptosis in fluoride treated rats. *Neuroscience Letters* **682**: 92–99.
- Orčić S, Nikolić T, Purać J, Šikoparija B, Blagojević DP, Vukašinović E, Plavša N, Stevanović J, Kojić D. 2017.** Seasonal variation in the activity of selected antioxidant enzymes and malondialdehyde level in worker honey bees. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **165**: 120–128.
- Pankiw T, Sagili RR, Metz BN. 2008.** Brood pheromone effects on colony protein supplement consumption and growth in the honey bee (Hymenoptera: Apidae) in a subtropical winter climate. *Journal of Economic Entomology* **101**: 1749–1755.
- Piccolomini AM, Whiten SR, Flenniken ML, O'Neill KM, Peterson RKD. 2018.** Acute toxicity of permethrin, deltamethrin, and etofenprox to the Alfalfa leafcutting bee. *Journal of Economic Entomology* **111**: 1001–1005.
- Pyrzyska K, Biesaga M. 2009.** Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **28**: 893–902.
- Sánchez-Echeverría K, Castellanos I, Mendoza-Cuenca L, Zuria I, Sánchez-Rojas G. 2019.** Reduced thermal variability in cities and its impact on honey bee thermal tolerance (N Andrew, Ed.). *PeerJ* **7**: e7060.
- Schleier JJ, Peterson RKD. 2012.** The joint toxicity of type I, II, and nonester pyrethroid insecticides. *Journal of Economic Entomology* **105**: 85–91.
- Soderlund DM. 2010.** State-Dependent Modification of Voltage-Gated Sodium Channels by Pyrethroids. *Pesticide biochemistry and physiology* **97**: 78–86.
- Tavares DA, Roat TC, Carvalho SM, Silva-Zacarin ECM, Malaspina O. 2015.** In vitro effects of thiamethoxam on larvae of Africanized honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Chemosphere* **135**: 370–378.
- Tomé HVV, Schmehl DR, Wedde AE, Godoy RSM, Ravaiano S V., Guedes RNC, Martins GF, Ellis JD. 2020.** Frequently encountered pesticides can cause multiple disorders in developing worker honey bees. *Environmental Pollution* **256**: 113420.
- Venkata G, Ramalingayya, Cheruku SP, Nayak PG, Kishore A, Shenoy R, Chamallamudi, Rao M, Krishnadas N. 2017.** Rutin protects against neuronal damage in vitro and ameliorates doxorubicin-induced memory deficits in vivo in Wistar rats. *Drug Design, Development and Therapy* **11**: 1011–1026.
- Verger PJP, Boobis AR. 2013.** Reevaluate pesticides for food security and safety. *Science* **341**: 717–718.
- Wong MJ, Liao LH, Berenbaum MR. 2018.** Biphasic concentration-dependent interaction

between imidacloprid and dietary phytochemicals in honey bees (*Apis mellifera*). *PLoS ONE* **13**: 1–15.

Wratten SD, Gillespie M, Decourtye A, Mader E, Desneux N. 2012. Pollinator habitat enhancement: Benefits to other ecosystem services. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **159**: 112–122.

Yang Y, Ma S, Liu F, Wang Q, Wang X, Hou C, Wu Y, Gao J, Zhang L, Liu Y, et al. 2020. Acute and chronic toxicity of acetamiprid, carbaryl, cypermethrin and deltamethrin to *Apis mellifera* larvae reared in vitro. *Pest Management Science* **76**: 978–985.